

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1898

THÈSE

N°

53

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le samedi 19 novembre 1898, à 1 heure.

Par R. RICOUX

Né à Philippeville (Algérie) le 7 mai 1877

Ex-préparateur à l'Institut Pasteur d'Alger

Lauréat de l'École de médecine d'Alger

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

PROBLÈME DE L'INFLAMMATION

Des réactions cellulaires consécutives à l'introduction de poudres inertes
dans l'organisme

(VOIES PÉRITONÉALE ET SANGUINE)

Président : M. MATHIAS DUVAL, professeur.

*Juges : MM. JOFFROY, professeur.
ROGER et THIROLOIX, agrégés.*

*Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties
de l'enseignement médical.*

PARIS

JOUVE ET BOYER

IMPRIMEURS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1898

53

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1898

— THÈSE N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue, le samedi 19 novembre 1898, à 1 heure.

Par R. RICOUX

Né à Philippeville (Algérie) le 7 mai 1877
Ex-préparateur à l'Institut Pasteur d'Alger
Lauréat de l'École de médecine d'Alger

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

PROBLÈME DE L'INFLAMMATION

Des réactions cellulaires consécutives à l'introduction de poudres inertes
dans l'organisme

(VOIES PÉRITONÉALE ET SANGUINE)

Président : M. MATHIAS DUVAL, professeur.

*Juges : MM. JOFFROY, professeur.
ROGER et THIROLOIX, agrégés.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les différentes parties de l'enseignement médical.



PARIS

JOUVE ET BOYER

IMPRIMEURS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

—
1898

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. BROUARDEL.
Professeurs	MM.
Anatomie.	FARABEUF.
Physiologie	CH. RICHET.
Physique médicale.	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales.	BOUCHARD.
Pathologie médicale.	HUTINEL.
Pathologie chirurgicale.	DEBOVE.
Anatomie pathologique.	LANNELONGUE.
Histologie.	CORNIL.
Opérations et appareils	MATHIAS DUVAL.
Matière médicale et pharmacologie.	TERRIER.
Thérapeutique	POUCHET.
Hygiène	LANDOUZY.
Médecine légale.	PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	BROUARDEL.
Pathologie expérimentale et comparée.	LABOULBENE.
	CHANTEMESSE.
Clinique médicale.	POTAIN.
	JACCOUD.
	HAYEM.
Maladie des enfants.	DIEULAFOY.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	GRANCHER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.	FOURNIER.
Clinique des maladies du système nerveux.	JOFFROY.
	RAYMOND.
Clinique chirurgicale.	DUPLAY.
	LE DENTU.
	TILLAUX.
Clinique ophtalmologique.	BERGER.
Clinique des maladies des voies urinaires.	PANAS.
Clinique d'accouchements.	GUYON.
	PINARD.
	BUDIN.

Agrégés en exercice.

MM.	DESGREZ	LEJARS	THIROLOIX
ACHARD.	DUPRE	LEPAGE	THOINOT
ALBARRAN.	FAURE	MARFAN	VAQUEZ
ANDRE	GAUCHER	MAUCLAIRE	VARNIER
BONNAIRE	GILLES DE LA	MENETRIER	WALLICH
BROCA (Aug.)	TOURETTE	MERY	WALTHER
BROCA (André).	HARTMANN	ROGER	WIDAL
CHARRIN	LANGLOIS	SEBILEAU	WURTZ
CHASSEVANT	LAUNOIS	TEISSIER	
PIERRE DELBET	LEGUEU	THIERRY	

Secrétaire de la Faculté : M. Ch. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX
D'ALGER ET DE PARIS

A MES MAITRES DES INSTITUTS
PASTEUR D'ALGER ET DE PARIS

A M. LE PROFESSEUR METCHNIKOFF

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR MATHIAS-DUVAL

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU PROBLÈME DE L'INFLAMMATION

*Des réactions cellulaires consécutives
à l'introduction des poudres inertes dans l'organisme
(voies péritonéale et sanguine)*

INTRODUCTION. — HISTORIQUE. PLAN GÉNÉRAL DU TRAVAIL

Le problème de l'immunité, posé par la doctrine phagocytaire, a rallié la plupart des savants. Les travaux de Metchnikoff et de ses élèves, l'ont fait progresser, ces dernières années, sur la base biologique du maître, se substituant peu à peu aux théories erronées de l'état bactéricide ou anti-toxique des humeurs.

La théorie cellulaire ou *phagocytaire* est suffisamment connue et assise, pour ne pas nécessiter ici de longs développements. Rappelons-en seulement les grandes lignes, pour donner de l'unité à cet exposé.

D'après Metchnikoff, on doit entendre par *phagocyte*, tout

élément cellulaire migrateur, quelquefois fixe, doué de la faculté de saisir et d'incorporer dans son sein les particules solides mises à sa portée. Cette fonction phagocytaire dévolue aux êtres les plus inférieurs, voit son cadre s'élargir dans l'échelle des espèces. La dotation de l'être unicellulaire se conserve dans les séries plus élevées en organisation, sous le nom d'*amiboïsme* : c'est la propriété, transmise, de la sensibilité et la motilité, aux cellules d'origine mésodermique chez le vertébré. Chez ce dernier la fonction phagocytaire s'exerce suivant trois manifestations principales : 1° digestion des parasites ; 2° détention des cellules à fonctionnement ralenti ; 3° englobement des particules inertes. L'acte d'englobement est permis par un protoplasma ductile dont les prolongements favorisent aussi la progression de la cellule, sa *diapédèse* : il y a en outre dans ce protoplasma une faculté de dissolution des corps englobés à même ou plutôt dans une vacuole contenant les sucs digestifs. C'est la *digestion intra-cellulaire*.

Puisque nos recherches ont porté sur le vertébré, nous dirons quelles sont ses cellules douées de phagocytose. Il faut établir une division, car l'apparition d'un système vasculaire clos a supprimé ici l'unité morphologique que l'on trouve chez l'invertébré. Ainsi deux groupes s'imposent, le vasculaire (sanguin) et le lymphatique, si nous prenons comme type originaire, le *lymphocyte*. Le lymphocyte est la forme embryonnaire, née dans les organes lymphoïdes et s'y multipliant : il est moins grand, en dimension, que tous ses dérivés, sa forme circulaire bien délimitée, avec un noyau compact débordé d'une très

mince zone protoplasmique. Il se multiplie par division indirecte. Ses dérivés par divergence sont :

Groupe vasculaire. — On y retrouve d'abord le lymphocyte, dont les stades successifs sont le *leucocyte mononucléaire*, à noyau très chromatique, protoplasma abondant et légèrement basophile ; la forme mixte, intermédiaire, à noyau en bissac ; le stade âgé, *leucocyte polynucléaire*, à noyau abondant déformé en vue de la diapédèse, comme boudiné ou enrubanné, fragmenté quelquefois, à protoplasma moyennement abondant et peu ou pas colorable. Le terme de l'évolution, mais inconstant, est *l'éosinophile d'Erlich*, à noyau lobé à protoplasma granuleux acidophile. Enfin signalons une forme rare, le leucocyte à granulations basophiles, dit *Mastzellen d'Erlich et Westphal* : le noyau incolorable offre une tache claire au milieu de fines granulations. Il dériverait directement du lymphocyte (*Cantacuzène*).

Groupe lymphatique. — Les éléments ont pour habitat les organes lymphoïdes, rate, moëlle des os, ganglions, vaisseaux et lacunes lymphatiques. Ce sont de gros mononucléaires, à protoplasma énorme criblé de vacuoles renfermant des inclusions diverses, parmi lesquelles le plus souvent polynucléaires et hématies. Leur noyau est à un pôle, régulier, vésiculeux, à réseau chromatique bien différencié, suc nucléaire abondant. Ils forment les cellules épithélioïdes des tubercules.

Sauf le lymphocyte qui ne l'est que peu ou pas, tous ces éléments sont phagocytes. Mais ils ne le sont pas

tous de la même façon : ainsi le leucocyte sanguin, principalement le polynucléaire, est *microphage*, c'est-à-dire mangeur de microbes, de parasites unicellulaires, tandis que la cellule lymphatique est *macrophage* propre à ingérer les substances inertes, ou résistantes comme les spores, ou encore les déchets cellulaires.

Tous ces phagocytes sont migrants, il en est de fixes ; ce sont, chez le vertébré, bien entendu, les endothéliums vasculaires doués de contractilité et d'amiboïsme par leur portion libre, et particulièrement la cellule de Kupffer, des capillaires sanguins du foie. Ce sont encore les jeunes cellules fixes du tissu conjonctif, issues génétiquement des amibocytes, (Metchnikoff) dites *clasmatoctes* (Ranvier) et *fibroblastes* (tissu de granulation).

Tels sont les appareils phagocytaires, ils se disposent quelquefois en amas fixes que l'on a appelés organes phagocytaires. Ils ont été surtout étudiés chez l'invertébré. Chez le vertébré on en trouve un type approché, qui est la pulpe splénique ; à la fonction phagocytaire s'adjoint quelquefois un rôle globuligène du même organe ; c'est la forme la plus parfaite de l'organe lymphoïde (rate des vertébrés).

L'idée d'utiliser les particules insolubles, pour suivre la trace des cellules qui en sont avides, remonte déjà à une époque lointaine. Nous exposerons, dans l'ordre chronologique, les travaux basés sur cette méthode. En 1862, HUECKEL, injectant des grains d'indigo à une thétys, constata le premier la propriété d'englobement des amibocytes. Une année plus tard, RECKLINGHAUSEN ayant identifié les globules du pus avec les leucocytes, inspira

à COHNHEIM (1867) d'autres recherches : citons cette expérience où l'auteur ayant injecté dans le sac lymphatique dorsal de la grenouille une poudre colorée, et provoquant d'autre part une suppuration de la cornée par cautérisation, trouva des globules de pus chargés de granules colorés. Voulant déterminer l'identité de cellules à noyau unique, bourrés normalement de grains noirs, dans l'alvéole pulmonaire, SLAVJANSKY (1869), injecta dans le sang et la trachée des poudres diversement colorées : il les retrouva dans ces cellules pigmentées de l'alvéole. C'était donc bien des leucocytes diapédésés ; il leur donna le nom de cellules à poussières (Staubzellen) Un travail confirmatif de Von Inns en 1876.

METCHNIKOFF (1883), ayant vu des cellules fixes du tissu conjonctif obéir à la loi phagocytaire, voulut démontrer leur origine leucocytaire : il en eut la preuve, en injectant dans la queue du têtard de la poudre de carmin. Les cellules migratrices s'en emparèrent, et il put les suivre dans leur transformation en cellules fixes étoilées. Revenant sur les recherches de Slavjansky, THISTOWITCH (1889) veut établir définitivement que les épithéliums (origine endodermique) sont incapables de phagocytose : il a recours au procédé des particules insolubles (sépie etc.) injectées dans la vessie natatoire des poissons, le poumon des grenouilles et les alvéoles du cobaye nouveau-né.

C'est Kowalesky (1885-98) qui inaugure d'une façon systématique la technique des injections colorées pour l'étude anatomique des éléments des organes phagocytaires. Le colorant, en suspension dans un liquide, est introduit dans la cavité générale, d'un invertébré : il est

commode alors de rechercher les organes qui s'imbibent par leurs cellules, du colorant injecté. CUÉNOT (1891-98) procède de même façon que l'école du Kovalesky. Nous n'entrerons pas dans le détail de leurs recherches qui ont parlé sur les *Annélides* (Polychètes, Oligochètes, Hirudi-nées) les *Mollusques* (Opisthobranches, Eolidiens, Pulmo-nés), les *Artropodes*. (Insectes, Myriapodes, Crustacés, Scorpionides) etc.

Signalons seulement deux mémoires : l'un de KOVA-LESKY et SCHNEIDER établissant la propriété phagocytaire que présentent les cellules épithéliales de la portion moyenne du tube néphridial chez quelques annélides. L'autre est de RACOVITZA (1895) : l'auteur, par la même technique générale, recherche si les particules solides peuvent pénétrer dans l'épiderme par les canaux des néphridies. Il peut ainsi établir, en conclusion générale, que les amibocytes, chez l'annélide polychète, servent à déposer du pigment excrétoire dans l'épiderme, et, à l'occasion, de retirer même et digérer au profit de l'orga-nisme les substances de réserve qui y sont accumulées (1).

Mais il nous faut arriver aux recherches de WERIGO (1892-94), CANTACUZÈNE (1897) QUERTON (1897) et PIERAL-LINI (1897) pour voir appliquer, chez le vertébré, les méthodes d'injections colorées insolubles. Nous parle-rons des résultats de Werigo, dans notre texte même, pour les comparer aux nôtres. Cantacuzène, à propos de recherches sur la destruction du vibrion dans l'orga-

1. CANTACUZÈNE (1897) observe la propriété phagocytaire des cel-lules endothéliales du coelome et de leurs dérivés fixes, chez que-l-ques annélides marines.

nisme, injecte dans le péritoine de l'encre de Chine : il assiste mieux ainsi aux effets de la narcose provoquée, sur les leucocytes. Querton, de son côté donne aux poudres inertes diverses voies pour les retrouver, sur un point irrité à plus ou moins de distance, participer avec les phagocytes à la formation du tissu de granulation. Enfin Pierallini emploie la voie péritonéale, pour y étudier l'acte de phagolyse consécutif aux injections dans la cavité séreuse. Il insiste sur les mutations leucocytaires en nombre, et signale le rôle de l'épiploon.

Il sera traité, dans le cours de notre étude, des influences chimiotactiques, que l'on résume dans le terme compréhensif de *leucocytose*. Les doctrines sont nombreuses et connues qui se disputent le mécanisme des phases (hypo et hyperleucocytose) de ce phénomène : on les trouvera exposées et discutées dans deux revues critiques de BESREDKA. Rappelons que la notion de *chimiotaхisme* des leucocytes fut introduite dans la science par PFEFFER (1888) puis MASSART et BORDET (1890).

D'après les travaux antérieurs, sur le rôle des poudres inertes dans l'organisme, il résulte en somme que ces substances sont saisies par les cellules amiboïdes ou fixes, puis déposées dans le tissu lymphoïde (peau des annélides) ou de ses annexes différenciés sous forme d'organes phagocytaires. Ainsi localisées, ces solutions sont ou bien digérées sur place (si elles sont digestibles) ou bien elles y persistent indéfiniment. A notre tour, nous avons voulu établir ce que devient, chez le vertébré supérieur, le carmin injecté par voie sanguine ou lymphatique. Nous avons eu aussi recours aux espèces microbiennes saprophyti-

ques, introduites dans le péritoine, pour tâcher d'élucider quelques phénomènes de leucocytose.

Notre travail est ainsi divisé dans ses grandes lignes.

I. — Injection de carmin dans le sang.

II. — Injection de carmin dans le péritoine.

III. — Injections intra-péritonéales microbiennes.

IV. — Appendice sur la toxicité à la longue du carmin.

V. — Conclusions.

Quant à notre technique elle n'inaugure rien. Les animaux réactifs ont été le cobaye et le lapin.

Les numérations globulaires furent faites à l'appareil Thomas Zeiss, les frottis colorés par l'hématoxyline ou par une couleur anilinée basique.

Les fragments d'organes étaient fixés avec le liquide de Mayer, ou celui de Flemming : les coupes étaient colorées, dans le premier cas avec l'hématéine (carmin) ou une couleur basique d'aniline, la thionine surtout (microbes); dans le second par la safranine anilinée.

Quant à l'introduction du carmin elle se faisait simplement en suspension stérile dans l'eau physiologique. La stérilisation se faisait préalablement sur chaque corps, par la chaleur, puis le mélange fait ensuite, pour éviter une dissolution d'un élément dans l'autre. On verra qu'il y avait là une précaution logique. Le liquide était injecté à une température de 35° environ, pour diminuer la leucopénie constamment consécutive.

Ce travail a été exécuté dans le laboratoire de M. le professeur Metchnikoff. Il nous reste un devoir agréable à remplir : celui de remercier notre éminent maître pour sa

bienveillance et ses conseils soutenus. Nos remerciements au personnel de l'Institut Pasteur de Paris, en général si obligeant. Nous n'oublierons pas l'accueil fait par nos collègues les D^s Marie, Bordet, Salimbeni, Marmorek, Tchistovitch.

Une mention spéciale de reconnaissance à notre ami le D^r Cantacuzène.

Que M. le professeur Mathias Duval, nous ayant honoré par sa présidence de notre thèse, veuille bien agréer nos plus respectueux remerciements.

CHAPITRE I

Réaction consécutive à l'injection du carmin dans le sang

Avant d'étudier la réaction du groupe leucocytaire lymphatique, vis-à-vis des poudres inertes, nous avons observé celle du groupe sanguin. Déjà plusieurs expérimentateurs s'étaient livrés à cette étude : nous les avons signalés. Nous nous arrêterons cependant sur un travail de Werigo, paru en 1892, sous l'inspiration de M. Metchnikoff. En effet, nos observations s'enchaînent avec celles de cet auteur, et les complètent. Werigo s'en est tenu aux stades de début, qui seuls importaient au but principal de ses recherches, le mécanisme de l'hypoleucocytose.

On sait que l'injection intraveineuse de particules, poudre inerte ou corps microbiens, en suspension dans un liquide est suivie d'une baisse instantanée du taux leucocytaire dans la circulation périphérique : l'effet en est purement mécanique. Les particules injectées disparaissent aussi très vite ; où passent-elles, ainsi que les leucocytes ? Werigo a démontré que chassés vers les viscères, ils étaient retenus par certains d'entre eux, avec une activité

variable. D'action bactéricide, comme prétendait Fodor, il n'y avait point, puisque le carmin subissait le même sort, et d'ailleurs Wyss Kovitch avait suivi leurs traces dans le foie et dans la rate. Werigo, lui, nota l'englobement immédiat, la seule présence du lymphocyte, peu ou pas phagocyte, pendant le stade d'hypoleucocytose, et conclut que les globules blancs disparaissaient du sang, parce qu'ils englobaient les bactéries et les emportaient dans les organes.

Dans le foie, il assiste à l'englobement des particules par la cellule endothéliale, dite de Kupfer, des capillaires sanguins, soit directement à l'aide des prolongements protoplasmiques du bord libre, soit par transmission indirecte : les phagocytes polynucléaires s'y déchargent au passage et reprennent le sens du courant. Dans la rate les leucocytes ne prendraient aucune part à la rétention du carmin qui y est vite (20 minutes) cédé aux grandes cellules de la pulpe.

Werigo pense que le rôle prépondérant du foie est dû aux cellules endothéliales, et aussi à une hyperémie plus grande de ses vaisseaux. Il n'a pas examiné le poumon, après le carmin ; mais il remarque, après injection de bactéries une agglomération précoce de celles-ci, libres ou englobées dans de nombreux leucocytes obstruant les vaisseaux capillaires.

En 1894, le même auteur observe les mêmes phénomènes après injections de la bactériémie charbonneuse. Il constate encore l'englobement rapide, la destruction précoce au niveau du poumon, de la rate et du foie. Dans le poumon ce sont les polynucléaires, de même dans la rate,

ainsi que beaucoup moins les macrophages; mais la supériorité est aux phagocytes hépatiques, qui suppléent longtemps à l'insuffisance des autres organes. Finalement les phagocytes ont le dessous, en mourant ils deviennent le siège de colonies bactériennes; la cellule endothéliale hépatique résiste la dernière. L'animal succombe par un retour à la virulence par sélection, et par le progrès de l'intoxication.

Nous indiquerons maintenant les résultats de nos propres expériences. Des lapins recevaient dans la veine marginale de l'oreille, environ 20 cent. cubes de suspension stérile de carmin dans l'eau physiologique, puis nous les sacrifions à des stades différents (10 minutes, 6 heures, 4 jours), assez espacés. Au point de vue du mouvement leucocytaire nous remarquons que l'hypoleucocytose du début ne dépasse pas le réseau périphérique : un lapin présentant 8000 leucocytes avant l'injection n'en donne plus que 3.500 15 minutes après, dans une veine de l'oreille, mais 9.100 dans un gros tronc veineux cervico-céphalique.

La diminution porte sur l'élément polynucléaire, de même que l'augmentation. Un autre animal, inoculé dans les mêmes conditions donne, au lieu de 9.400 avant, 10.500, quatre heures, et 10.800, six heures après. Enfin un troisième atteint 16.600, 24 heures après; 20.000, après 15 heures, 32.000 après 3 jours, le quatrième jour, une chute à 18.000. On voit qu'il y a une leucocytose réelle dans les délais secondaires. Werigo, tout en admettant l'hypoleucocytose constante, réserve pourtant la leucocytose consécutive pour les injections bactériennes;

mais il ne compte plus, au delà de 30 heures. Or il y a une leucocytose secondaire réelle, après le carmin ; mais elle ne date que du premier au deuxième jour jusqu'au troisième, pour sembler décliner ensuite.

Devons-nous en outre accepter l'interprétation de Werigo sur l'hypoleucocytose ? Ce savant la base sur l'englobement immédiat et la fuite centripète des phagocytes. Or, il y a très peu de leucocytes polynucléaires englobant le carmin, suivant une loi que nous avons énoncé plus loin, et qui demeure ici ; d'autre part, c'est sur cet élément que porte la diminution passagère du taux globulaire. D'un autre côté, les particules en liberté, nombreuses, quittent aussi le champ extérieur. Il est donc fort probable que l'action est simplement mécanique, que la poussée de la masse mi-liquide, mi-solide, introduite détermine des différences de pression, se traduisant par un appel vers les centres auquel obéit l'arborisation périphérique. Un autre facteur probable est la dilution, quoique très accessoire, car notons dans les tables de Werigo une légère diminution aussi de taux des hématies, probablement plus constante et sérieuse s'il avait compté plus près du moment de l'injection. Que dire maintenant de la leucocytose tardive ? Nous relevons dans nos analyses qualitatives les chiffres suivants :

	Polynucléaires	Mononucléaires	Lymphocytes
Moyennes générales pour 100 leucocytes.	64,3	13,3	22,3
			35,6

Peut-être ne faut-il pas prendre à la lettre des chiffres ne portant que sur un nombre restreint d'animaux, mais il semble qu'il y ait là une mononucléose, plus proprement *lymphocytose*. Est-elle due, comme l'admet Werigo, après ses injections bactériennes, à une excitation chimique provoquant une multiplication cellulaire dans le sang même, d'où la croissance du nombre des stades jeunes? Buchner a vu cette production nouvelle, après injection des produits bactériens filtrés, et Rømer la localise dans le milieu sanguin, par division cellulaire directe ou indirecte. L'explication est plausible, elle n'est peut-être pas absolue. Nous savons l'affinité toute spéciale de la cellule amiboïde mononucléée pour l'élément inerte comme le carmin; pourquoi ne pas songer à en voir la cause de la mononucléose?

Le passage est bien connu, nécessaire d'ailleurs pour son renouvellement, de la cellule mobile à noyau unique dans le sang; il se peut que le stade âgé, représenté par le polynucléaire, n'ayant qu'un pouvoir très faible pour l'englobement de la particule inerte, les centres lymphatiques producteurs de cellules blanches mobiles envoient davantage dans la circulation générale, pour l'en débarrasser. Et s'expliquerait ainsi pourquoi cet afflux tardif que nous avons, toutes proportions gardées, observé dans la réaction péritonéale.

Quoiqu'il en soit de ces mutations leucocytaires et de leur mécanisme, nous exposerons maintenant les phénomènes viscéraux contemporains. Nos coupes ont porté sur le poumon, la rate, le foie, le rein, l'intestin (follicule clos) et la moelle des os.

Poumon. — Après un quart d'heure on peut voir dans les capillaires de l'alvéole de véritables thrombus leucocytaires formés par l'entassement de polynucléaires la plupart vides. Ce sont eux qu'a chassé tout d'abord l'injection. Il y a aussi des grains de carmin mais libres et entraînés de même par le courant, car il n'y a pas phagocytose véritable. Cet état se dissipe, et après 6 heures déjà l'ordre se rétablit. Dans les préparations de 4 jours il est impossible de rien noter.

Rate. — Tout se passe dans la région pulpeuse, les systèmes clos de Malpighi n'ayant aucune relation directe avec le courant sanguin. Mais la pulpe qui en est baignée participe à la réaction : on y remarque, dans la première phase seulement, des polynucléaires réfugiés là, à rôle passif, marquant toujours le même peu d'empressement à englober le carmin. Celui-ci y est tout d'abord libre le plus souvent, mais dans le stade suivant il est saisi par les cellules mononucléées, petites puis grandes que l'on rencontre toujours ici en abondance. Cependant, dès le premier quart d'heure on peut voir de ces macrophages de la pulpe à noyau vésiculeux polaire, à protoplasma abondant, contenir dans des vacuoles digestives, ou à même sa substance, des grains de carmin, ainsi que d'autres inclusions : ainsi on y voit des résidus de globules rouges, comme normalement, et des leucocytes polynucléaires tout entiers : il y a drainage cellulaire en même temps qu'englobement de la particule inerte. Ces figures (voir la planche) se retrouvent à tous les stades, même les plus tardifs.

Foie. — C'est incontestablement à cet organe qu'incombe le rôle le plus évident et considérable. Au premier coup d'œil on s'en rend immédiatement compte, vu d'abord la quantité de substance qui y est retenue, ensuite l'activité des éléments hépatiques à son égard. Nous n'avons pas assisté à des stades précoces suffisamment, pour y voir l'encombrement des vaisseaux intralobulaires par les leucocytes (Werigo) et leur action de décharge vis-à-vis de la cellule endothéliale. Ce dernier tableau doit d'ailleurs être rare et peu constant, vu la phagocytose à peu près nulle par le polynucléaire, l'élément prédominant. Mais celui de l'englobement des particules libres par la cellule de Kupfer se répète bien des fois, dans les capillaires sanguins.

Ce phagocyte fixé arrête tout simplement au passage le grain de carmin en poussant des prolongements protoplasmiques de son bord libre, et l'englobe directement. Dès les 15 minutes suivantes le carmin libre se fait rare, et après quatre jours on n'en voit plus que dans les cellules endothéliales : on peut même assister alors à un processus assez curieux, celui de la confluence, l'anastomose de deux cellules endothéliales d'un même capillaire. (Voir la planche). Une sorte de grande cellule macrophagique se constitue ainsi, divisant la lumière du capillaire. Aussi tardivement (4 jours), qu'ont porté nos observations, les choses s'immobilisent dans l'état que nous venons de décrire, sans que de nouveaux phénomènes apparaissent, notamment celui de la digestion du carmin englobé.

Autres organes. — Les coupes des autres organes n'of-

frent aucun intérêt : nous avons vu, au bout d'un quart d'heure dans le rein un mononucléaire chargé de carmin, dans un glomérule de Malpighi ; dans un capillaire sanguin de la zone médullaire un grain à portée d'une cellule endothéliale, sans qu'on puisse affirmer l'englobement.

Rien dans le follicule clos intestinal. Dans la moelle des os, les coupes ne nous ont pas montré de carmins, et par conséquent aucun rôle de la part des cellules de la série lymphatique ou des grandes cellules multinucléées, myéloplaxes de Robin. Nous devons dire qu'un frottis pris dans la cavité médullaire de l'os d'un autre membre nous a montré des portions de carmin libre d'autres englobées par le mononucléaire : dans le stade éloigné, une leucocytose assez intense, mais absence de carmin et de phagocytes.

CHAPITRE II

Étude de la réaction qui suit l'injection de carmin dans la cavité péritonéale.

Nous allons étudier successivement les modifications que l'on observe : 1° dans le sang et la circulation générale ; 2° dans la cavité péritonéale.

1° Voici un tableau qui représente les modifications de la leucocytose dans le sang d'un cobaye qui a reçu 5 centimètres cubes d'eau physiologique tenant en suspension du carmin.

Heures	Leucocytose totale du sang par m. c.	Analyse qualitative pour 100 leucocytes		
		Polynucl.	Mononucl.	Lymph.
Avant. . . .	9.000	75	7	18
1/2 heure après.	8.000	68	7	25
2 heures après .	19.000	75	5	20
4 heures après .	20.000	»»	»	»»
6 heures après .	40.000	90	6	4

Nous voyons d'après cela que le nombre total de leucocytes, après avoir baissé dans les quelques minutes qui

suivent l'injection (stade d'hypoleucocytose) augmentent dans les heures suivantes de façon à atteindre un chiffre 4 à 5 fois supérieur à la normale (stade-d'hyperleucocytose) puis le nombre total par millimètre cube décroît; il est redevenu normal au bout de 48 heures. Remarquons que ces diverses modifications portent sur les leucocytes polynucléaires, dont le chiffre baisse pendant le stade d'hypoleucocytose, pour atteindre au bout de quelques heures la proportion de 90 0/0. Notons que la *proportion des mononucléairss ne varie à aucun moment de la réaction.*

2° Voici maintenant la série des phénomènes locaux observés dans le péritoine à la suite de l'injection.

On constate que très peu de minutes après l'injection (5 à 15 minutes) les grains de carmin en suspension dans l'exsudat péritonéal disparaissent presque complètement. Si, au contraire, on examine à ce moment un frottis de l'épiploon on constate que la presque totalité du carmin s'est déposée à la surface de ce dernier. On trouve en effet à ce moment l'épiploon complètement revenu sur lui-même et tassé sous forme de cordon le long de son insertion stomacale. Il forme ainsi une infinité de replis et de sinus au fond desquels des grains de carmin se trouvent accumulés. L'épiploon joue donc, dès le début du phénomène de la réaction le rôle d'une vaste surface de drainage emprisonnant, par son retrait, dans ses sinuosités les granulations libres.

On conçoit que ce soit là une disposition éminemment favorable à l'englobement ultérieur de ces granulations par les cellules migratrices. L'anatomie comparée nous

offre des exemples de ce genre : ainsi l'on sait que les organes phagocytaires sont constamment situés chez les invertébrés, dans des points de l'organisme où la circulation est ralentie ; par exemple, dans l'angle formé par deux organes voisins, ou bien encore dans les points, où la cavité générale se trouve traversée par des fibres musculaires ou ligamenteuses, qui s'entrecroisent. Il s'agit là de véritables repaires, rétrécissant le champ de prise en immobilisant aussi la proie. Les particules en suspension, en s'accolant sur ces surfaces, y sont bien plus facilement saisies que si elles étaient libres et en équilibre instable dans le liquide cavitare.

Quant aux quelques grains qui restent en suspension dans le liquide cavitare, ils sont dès le début de l'expérience englobés par le leucocyte de la lymphe péritonéale. *Parmi ces éléments, les leucocytes mononucléaires ont le rôle le plus actif dans l'englobement* ; très rapidement leur protoplasma à tous est bourré de grains de carmin qui refoulent le noyau à la périphérie. Les polynucléaires montrent beaucoup moins d'affinité pour le carmin ; un certain nombre d'entre eux en contiennent quelques grains, mais la plupart restent vides. Nous avons également nettement constaté la présence de grains de carmin à l'intérieur des lymphocytes à protoplasma très peu abondant : *ainsi le stade jeune participe aussi à l'acte d'englobement*, dès toutefois, que sa bande protoplasmique lui en accorde la possibilité.

En somme, dès le début de l'expérience, on ne trouve plus de carmin libre, nageant dans le liquide ; la plus grande partie se trouvant emprisonnée dans les replis de

l'épiploon, le reste étant déjà englobé par les cellules migratrices. Il arrive que des grumeaux de substance injectée, soient retenus par quelques replis mésentériques : ils ne s'y fixent pas, mais finissent par s'éparpiller dans le champ péritonéal avec les phagocytes de l'exsudat qui les baigne, peu à peu ceux-ci les ayant totalement englobés. Enfin une certaine quantité de granulations se dépose directement à la surface du péritoine pariétal, ainsi qu'on peut le constater par des coupes de cette région.

A partir de ce moment, tout le carmin, ainsi déposé sur es différentes surfaces péritonéales, va être progressivement englobé par les cellules amiboïdes, ces dernières appartenant à deux groupes : les unes vont se charger du carmin déposé sur les parois, et sont constituées par des amas fixes (amas phagocytaires) situés dans la paroi abdominale, sous le péritoine pariétal ; les autres représentées par des cellules migratrices issues, par diapédèse, des capillaires sanguins et du système lymphatique, ingéreront les grains de carmin immobilisés à la surface de l'épiploon.

Nous allons examiner successivement ces deux groupes de phagocytes :

a) Très peu de temps, après l'injection, le carmin en contact avec le péritoine pariétal se trouve capté par les cellules d'un certain nombre d'amas fixes, que nous avons eu l'occasion d'observer dans la paroi abdominale chez le cobaye. L'action de ces éléments est excessivement précoce, si bien qu'une heure après l'injection, ces organes apparaissent sous forme de petit amas rouges, visibles, à l'œil nu, et que toutes leurs cellules contiennent déjà à

ce moment du carmin en grande quantité. Nous allons donner, une description sommaire de ces petits appareils jusqu'ici ignorés (1).

Il s'agit de petits amas lymphoïdes, dont le nombre et la situation sont des plus variables. Il ne semble pas non plus que leur distribution soit fixe ou symétrique. D'une façon générale ils siègent à la face ventrale de la cavité péritonéale. Ce siège d'élection est sans doute subordonné à la loi de pesanteur : la station ordinaire du cobaye oblige en effet les particules injectés à une stagnation dans la région élue, condition que nous savons déjà très opportune. Chacun d'eux se présente sous forme de petites masses ovoïdes, plus ou moins allongées, situées sous l'endothélium péritonéal qu'il soulève entre la séreuse et la couche musculaire, dans le tissu conjonctif sous-endothélial. Du côté de la cavité péritonéale, ils sont directement limités par l'endothélium qui, à ce niveau, conserve ses caractères.

Du côté de la couche musculaire, l'amas est nettement entouré par une série de grandes lacunes lymphatiques, constituant un sinus lymphatique péri-folliculaire ; celui-ci est en communication directe, ainsi qu'on peut le voir sur des coupes, avec la lappe lymphatique sous-endothéliale, partout sous-jacente dans toute la surface du péritoine pariétal. Quant à l'amas lui-même, il est constitué par un réticulum conjonctif assez lâche, dans les mailles duquel, sont logés un nombre considérable de

1. Il s'agit seulement de la famille mammifère dont nous n'avons observé que le cobaye.

grands éléments mononucléaires, à noyau arrondi, non lobé, vésiculeux, et présentant un réseau chromatique rare et bien différencié.

Le protoplasma de ces éléments est très abondant et contient normalement des inclusions variées, telles que : hématies, à divers stades de digestion intra-cellulaire, leucocytes polynucléaires, plus ou moins dégénérés, etc. Ils sont comparables, en tout point, aux grands macrophages, rencontrés dans la pulpe de rate, dans les follicules clos et dans les ganglions lymphatiques.

Ils sont les seuls éléments dont l'accumulation constitue l'amas en question. On ne trouve en effet, à côté d'eux, ni leucocytes polynucléaires, ni stades jeunes de leucocytes mononucléaires. On n'y constate pas davantage de figures de karyokynèse. Il s'agit donc là, non pas d'amas globuligènes, tels que les corpuscules de Malpighi de la rate, ni d'amas mixtes à la fois globuligènes et phagocytaires, tels que les follicules clos de l'intestin ou ceux des ganglions lymphatiques ; mais bien d'amas phagocytaires comparables, au point de vue physiologique, aux amas phagocytaires décrits par Kowalevsky et son école, dans la cavité péritonéale de divers annélides.

Ces organes sont pénétrés par des vaisseaux sanguins, (veines, artères et capillaires). Les leucocytes contenus à l'intérieur de ces vaisseaux sont des polynucléaires et appartiennent au type usuel des leucocytes sanguins.

Au contraire les éléments migrants que l'on rencontre dans le sinus périfolliculaire et dans les espaces lymphatiques, voisins de l'amas, appartiennent au type des leucocytes mononucléaires qui habitent l'organe en ques-

tion. Il apparaît donc nettement, que les voies de migration de ces éléments appartiennent non au système sanguin, mais au système lymphatique.

Si l'on examine des coupes de ces organes, *une heure* après l'injection intrapéritonéale du carmin on constate que l'endothélium péritonéal à ce niveau est traversé de toutes parts, bouleversé même par les macrophages en diapédèse. Ces éléments ne semblent pas quitter définitivement l'amas pour tomber dans la cavité péritonéale, mais venir happer simplement la proie en contact. Dès ce moment, tous les macrophages de l'organe sont déjà bourrés de grains de carmin, situés en général, à l'intérieur de vacuoles claires.

Le tableau n'est pas différent sur des coupes de ces organes, de *2 à 4 heures* après l'injection; seulement on constate que quelques-uns de ces mononucléaires ont émigré hors de l'organe par les voies lymphatiques. On trouve, en effet, un certain nombre de ces éléments chargés de carmin, à l'intérieur des tissus lymphatiques péri-folliculaires, ou bien encore, plus profondément, engagés entre les faisceaux musculaires de la paroi. Par contre on n'en observe jamais à l'intérieur des vaisseaux sanguins.

Sur des coupes de *4 à 5 jours*, on constate que l'endothélium péritonéal est en place et n'est plus traversé que par quelque très rares phagocytes. Dès cet instant, on constate déjà, à l'intérieur de l'amas, la présence de quelques cellules géantes, nées par confluence des macrophages chargés de carmin. En effet, on n'y observe aucun phénomène de karyokynèse; d'autre part, dans

certaine de ces formations, on peut constater encore l'individualité des éléments qui l'ont constitué par confluence, et dont on aperçoit des prolongements incomplets réunis au centre, tandis que le noyau est relégué à la périphérie la plus éloignée du sens de la marche, ainsi qu'il y a lieu pour des éléments migrants en mouvement. Quant aux granulations de carmin, elles se trouvent toutes réunies au centre de ces petits appareils.

Si l'on examine des coupes d'amas phagocytaires, *un mois* après l'injection on constate qu'il ne se produit plus aucune diapédèse vers la cavité péritonéale. Le nombre des cellules géantes a considérablement augmenté. A ce moment, la quantité de carmin, contenue dans chaque élément est beaucoup moins considérable qu'au début ; les grains de carmin sont plus petits, mais tassés. Il semble qu'il y ait là une digestion lente du carmin, à l'intérieur du protoplasma cellulaire. D'ailleurs, la propriété du protoplasma de digérer le carmin englobé a été nettement constatée chez plusieurs annélides.

Ajoutons que nous n'avons constaté jamais de grain de carmin à l'intérieur des cellules endothéliales du péritoine.

b) Tandis que l'ingestion du carmin est pour ainsi dire terminée au bout de 1 à 2 heures au niveau des organes lymphatiques de la paroi, cet englobement est plus tardif, plus long à se faire à la surface repliée de l'épiploon. C'est qu'en effet, il faut ici aux leucocytes épars, dans les vaisseaux sanguins ou lymphatiques, le temps d'affluer et de pénétrer par diapédèse dans la cavité péritonéale. En effet, à mesure que le taux leucocytaire s'élève dans les

vaisseaux sanguins, il se fait une pénétration abondante de leucocytes dans la cavité péritonéale. Ainsi observons ce cobaye.

Il présentait avant l'injection 35.600 leucocytes par millimètre cube de lymphe péritonéale; après l'injection une diminution du taux leucocytaire, due peut-être à la dilution de la lymphe péritonéale par le liquide d'injection, mais surtout au fait que la plupart des leucocytes quittent à ce moment l'exsudat pour se réunir à la surface de l'épiploon.

Chez ce même animal, on trouve, 65 heures après, 128.000 leucocytes par millimètre cube, puis le chiffre baisse progressivement et tombe à 92.000, au bout de 12 jours.

Si l'on examine, par le moyen de frottis et de coupes, ce qui se passe au niveau de l'épiploon, on constate que dès la première heure qui suit l'injection, les capillaires sanguins se gorgent de polynucléaires qui en sortent par traînées, s'accumulent sous l'endothélium péritonéal, et le traversent par diapédèse; parvenus à la surface de l'épiploon, les uns englobent de petits grains de carmin, mais toujours en petit nombre, d'autres entourent les amas plus considérables de carmin, et les pénètrent. Un grand nombre d'ailleurs restent vides.

Nous retrouvons là *le peu d'affinité que présentent les éléments polynucléaires pour le carmin et la sépia, et, à ce qu'il semble, pour les poudres inertes en général.* Au bout de quelques heures on voit apparaître à la surface de l'épiploon des mononucléaires, grands éléments, comparables à ceux que l'on observe dans les organes lymphoïdes, (rate, moelle, os, etc.) Leur apparition marque

la fin de la phase aiguë. Leur nombre augmente rapidement, si bien qu'ils représentent bientôt 65 pour 100 des leucocytes immigrés (24 heures après), et 95 pour 100 10 jours après le début de l'expérience. Sur les coupes on ne rencontre jamais de mononucléaire à l'intérieur des vaisseaux sanguins, ils sortent en effet des différents organes lymphoïdes et arrivent par voie lymphatique. D'ailleurs sur un épliploon étalé on constate que les vaisseaux lymphatiques accolés aux vaisseaux sanguins sont remplis de ces éléments. A mesure qu'ils arrivent à la surface de l'épliploon, ces leucocytes mononucléaires se gorgent de grains de carmin, si bien qu'au bout de quelques jours on ne trouve plus de carmin libre à la surface de l'épliploon. D'autre part, les polynucléaires contenant du carmin et d'autres encore, accourus nombreux aux premiers stades, sont progressivement englobés par ces macrophages, à l'intérieur des vacuoles intracellulaires ce qui explique, dans les tables de leucocytose comparée la décroissance progressive de l'élément polynucléaire au bénéfice de l'élément mononucléaire.

C'est ainsi que l'on voit un même macrophage contenir 2 et 4 polynucléaires, et davantage, à l'intérieur de son protoplasma, en même temps que des grains de carmin, dans des vacuoles distinctes (Voir la planche). Il nous faut signaler des formes dégénérées, quelquefois nombreuses, de polynucléaires réduits aux noyaux, dans les exsudats depuis 24 heures : ce sont des Karyolyses, vestiges peut-être de l'acte de phagolyse très incomplète qui succède à toute injection intrapéritonéale ; il est assez fréquent de les trouver englobées dans les macrophages.

Dans le groupe mononucléaire on observe des formes mixtes, fort embarrassantes à classer, à noyau en bissac plus ou moins régulier, mais appartenant sûrement au groupe lymphatique.

Mais reprenons de plus près les phénomènes de réaction propre à l'épiploon. Pendant la première heure qui suit l'injection, les quelques leucocytes présents dans les vaisseaux s'en échappent ; mais l'acte du véritable et abondante diapédèse ne se fait que de la deuxième à la quatrième heure. Alors, on peut voir la lumière des vaisseaux, obstruée de polynucléaires, qui ne tardent pas à en sortir, pour venir en quantité formidable encombrer les mailles conjonctives lâches. Une partie tombe dans la cavité péritonéale, où les révèlent les numérations d'exsudat. L'autre entoure et pénètre les amas épais de carmin. La poussée de diapédèse est si violente qu'on peut voir souvent des hématies s'infiltrer par les mêmes interstices des parois vasculaires, un peu bouleversées.

A la sixième heure un acte analogue au premier se produit : des fentes lymphatiques surgissent de nombreux mononucléaires, dont le taux remonte aussitôt dans l'exsudat, avons-nous dit. Sur une coupe de la dix-huitième heure, on les voit, ayant disloqué les massés de carmin libre, infiltrées déjà de polynucléaires, se charger de l'un et des autres, et rétrogradant venir à nouveau, avec leur proie cette fois, remplir les espaces interfasciculaires du tissu fenêtré. A partir de ce moment, le processus continue de même, jusqu'à ce que tout le carmin, ait réintégré l'intérieur de l'épiploon. Le laps de temps, on

le conçoit, en est variable selon l'individu, ou par exemple la quantité de substance injectée.

Mais, si les jours suivants, on ouvre un de ces animaux, on peut voir l'épiploon beaucoup moins tassé sur lui-même, se déplier peu à peu, sans toutefois reprendre son ampleur première. Macroscopiquement toujours, le carmin paraît s'y répartir de deux façons, l'une en îlots disséminés nombreux, l'autre en traînées parallèles aux petits vaisseaux sanguins, mais discontinues. Les tableaux microscopiques correspondants (8^e, 20^e, 30^e jours) nous offrent ce spectacle : d'une part la rentrée progressive, bientôt complète, à travers l'endothélium, des macrophages bourrés, de l'autre leur tassement à l'intérieur de l'organe.

Cette dernière opération semble se poursuivre de deux manières : ou bien les petites masses enkystées ne sont pas autre chose que ramassis serrés des grands phagocytes mononucléaires bourrés et distendant les espaces lymphatiques. Dans d'autres cas, on peut apercevoir une artère et ses deux veines satellites en un pôle de masse kystique plus petite, et l'on peut penser que celle-ci représente la lumière extrêmement bondée, jusqu'à une distension excessive, du canal lymphatique les accompagnant. En effet, au centre de la masse aucune trace de lien histologique, fibre quelconque ; et ceci correspond bien à ce que nous disons de l'aspect macroscopique. Mais cette ébauche d'émigration vers des voies lymphatiques d'échappement, de plus en plus considérables, est suspendue par *la tendance très active des macrophages*

en présence, à se constituer en confluant les uns vers les autres, en formations géantes.

Pour être complet sur ce processus local, nous dirons que nous n'avons pas étudié nos préparations au point de vue de la transformation de la cellule amiboïde en cellule jeune du tissu conjonctif (histogénèse du tissu de granulation d'après Metchnikoff) (1).

c) Les observations précédentes étaient nécessaires pour l'enchaînement des phénomènes. Mais notre but principal était, ne l'oublions pas, d'observer les mutations leucocytaires non seulement sur place, mais surtout à distance : Il était intéressant de savoir si de tous ces facteurs de la réaction cellulaire précédemment décrite, il n'y en aurait pas qui présenteraient de nouvelles phases, hors de ce premier théâtre, le péritoine, et dans les organes connexes, les viscères abdominaux. Nous avons, pour éclaircir ce point, fixé et mis en coupes la plupart des viscères abdominaux, foie, rate, rein et capsule surrénale, intestin et follicule clos, estomac, ganglions mésentériques et moëlle des os ; dans quelques expériences nous avons même coupé poumon et cerveau. Un nombre assez grand de préparations, sur des expériences répétées et progressivement espacées du moment de l'injection, ne nous ont pas permis de rencontrer hors de la séreuse et ses dépendances actives, précédemment décrites, une seule cellule à transfert ou habitat de car-

1. Cependant, ayant, d'une façon inopinée, blessé un de nos cobayes au niveau de l'oviducte, au cours d'une injection de carmin, nous pûmes, quelques jours après, constater une zone de réparation manifestement infiltrée de carmin.

min. Les frottis des organes énoncés n'ont pas été davantage instructifs.

Est-ce à dire qu'il faille nier absolument une émigration extraséreuse, par quelque voie que ce soit, de la cellule amiboïde chargée de carmin? Non, mais nous pensons que le nombre des métastases doit être suffisamment limité pour ne pas permettre, sans un rare hasard, à l'expérimentateur de le rencontrer. Les voies lymphatiques nombreuses, aboutissant à la cavité péritonéale, doivent, sans nul doute, servir à l'émigration de quelques-unes de nos mobiles cellules à carmin, et nous avons bien vu cet acte dans des coupes de nos organes phagocytaires pariétaux: dès que le réticulum propre de l'appareil lymphoïde se trouve gorgé, de nouveaux mononucléaires advenant, le trop plein se fait issue vers la face profonde, limitrophe du muscle; entre les faisceaux de celui-ci rampent, en files peu serrées d'ailleurs, dans les espaces lymphatiques des sarcolemnes, les macrophages à granules de carmin, les premiers arrivés faisant place aux nouveaux venus.

En effet des coupes semblables d'un cobaye, injecté depuis plus de 30 jours montrent ce dernier processus terminé, l'endothélium ne montrant plus de diapédèses originaires de la cavité, elle-même complètement débarrassée des éléments à carmin. Avant de laisser cette question des métastases, indiquons une expérience: à des cobayes, au péritoine chargé de carmin depuis au moins 6 heures nous avons injecté par la même voie une dose rapidement mortelle de *vibrio Metchnikovi*. On sait ce microbe doué de propriétés chimiotactiques négatives in-

tenses. Nous sacrifions nos animaux à des stades plus ou moins éloignés de l'injection, jusqu'à la mort qui se produisait dans les 6 heures ordinairement. L'injection vibrionienne était suivie d'une phagolyse à peu près complète, puis d'une hypoleucocytose du sang et de l'exsudat se maintenant jusqu'à la fin. Que devenaient nos leucocytes avec leur indice carmine, ainsi repoussés vivement ? Coupes et frottis des viscères ne nous ont rien montré non plus, hors de l'abondante destruction locale.

Un autre expérience nous semble plus probante, nous la résumons aussi d'une façon brève ;

I. — *Un COBAYE reçoit alternativement :*

1° Dans le péritoine, 10 cc. de suspension de carmin stérile.

2° 6 heures après. *sous la peau*, 5 cc. émulsion subtilis-gélose, 24 heures.

3° 36 heures après, *sous la peau*, 1 cc. culture pyocyanique, gélose 24 heures, chauffée à 80°.

Nous retirons, 18 et 48 heures après les injections microbiennes, du pus d'abcès sous-cutané, et nous examinons en goutte suspendue et frottis sec coloré. Aucune trace de cellule à carmin. Nous n'avons pas fait de coupes de région abcédée.

II. — *Un LAPIN est successivement inoculé :*

1° *Dans le péritoine*, 60 cc. de suspension de *carmin*.

2° *Dans le sang*, 5 heures après, 30 cc. suspension de *noir animal*.

3° *Sous la peau* (oreille) 6 heures après 10 cc. culture *sarcine-gélose*, 24 heures.

4° *Sous la peau*, 36 heures après, 2 c. c. culture *pyocyanique*, 24 heures, chauffée à 80°.

5° *Dans la chambre antérieure de l'œil*, 54 heures après, injection de suspension de *noir animal*.

6° *Dans la cavité pleurale*, 54 heures après, *noir animal*.

Dans les pus, après 18 et 48 heures, il y a des granulations noires dans des leucocytes, diapédésés des vaisseaux sanguins par conséquent. Il y a des grains noirs libres, ils proviennent des cellules que le frottis a mécaniquement brisées. Mais pas une seule cellule à rouge de carmin (péritoine).

On a deviné pourquoi nos cinquième et sixième inoculations : d'abord parce qu'elles sont en cavités lymphatiques, en communion plus directe par suite avec celle du péritoine. De plus nous y avons introduit non plus du bacille, comme sous la peau, mais de la poudre inerte de coloration différente ; et nous avons ainsi obéi aux considérations de chimiotaxisme bien mise en lumière par nos expériences. La cellule lymphatique du péritoine avec son indice-carmin a-t-elle été mieux attirée cette fois,

par le dépôt voisin de poudre inerte noire? Nos préparations d'humeur aqueuse et d'exsudat pleural après 24 heures ne nous l'ont en rien démontré.

Y aurait-il donc chez la cellule amiboïde de la lymphe un gavage par une substance l'empêchant d'être attirée par une autre? Pourtant on trouve souvent des inclusions diverses chez le même individu. Peut-être du fait d'un premier acte d'englobement, la fonction de motilité se perd-elle, ou seulement se ralentit. Ce sont autant d'hypothèses.

Disons tout de suite à quelle constatation indirecte mais importante la précédente expérience a donné lieu. Notre lapin à injections multiples, et notamment de noir animal dans la plèvre, nous a offert, à son autopsie provoquée, des formations pariétales de cette séreuse, absolument identiques, macroscopiquement, à celles que nous avions observées déjà sur le péritoine du cobaye. Même forme globuleuse et mêmes volume et dimensions, et tendance égale à se manifester dans les positions déclives où stagne l'exsudat, durant la station naturelle de l'animal. A noter même une rapidité plus grande, semble-t-il, dans la succession des phénomènes, que nous n'avons d'ailleurs pas encore pu étudier intimement: ainsi le véhicule liquide de la suspension colorée était à peu près entièrement résorbé, — rappelons que le délai n'était que de 20 heures, — et la poudre inerte était presque entièrement incluse dans nos appareils sous-séreux si bien délimités et fort nombreux.

C'est qu'ici la séreuse est seule à réagir contre l'élément introduit: point de drainage auxiliaire par un orga-

ne comme l'épiploon. Enfin disons que ce même lapin présentait les semblables appareils dans le péritoine, saturés ceux-là du carmin que nous y avons introduit : et ceci nous porte à croire que nous sommes en présence d'appareils de défense des séreuses en général, ayant leurs homologues dans toute la série des mammifères, voire même l'échelle des Vertébrés.

CHAPITRE III

Injectiions microbiennes intrapéritonéales

(*Espèces saprophytes*).

Ainsi, il n'était pas permis de retrouver hors du champ d'action, le lieu de l'injection, le leucocyte nanti de son indice carminé. Serait-on plus heureux en introduisant par la même voie non plus une poudre inerte, mais un parasite vivant? Il importait de faire un choix : on ne pouvait employer un microbe infectieux et toxinifère, qui aurait fait intervenir des influences chimiotactiques et autres capables de modifier les phénomènes de leucocytose normale, les premiers à connaître. La plupart des agents microbiens pathogènes sont dans ce cas : les espèces saprophytes sécrètent bien aussi des produits solubles, mais plutôt neutres, aucunement morbides, en tous cas, à doses moyennes.

Nous avons donc pris parmi elles le bacille de l'infusion de foin (*bacillus subtilis*) et la sarcine orange (*sarcina lutea*). Nous employions des cultures jeunes (18-24-36 heures) sur gélose, puis émulsionnées dans l'eau physiologique, ce qui donnait un plus grand nombre de bactéries que la culture en milieu liquide. Et nous avons pro-

cédé comme pour le carmin; nous diviserons donc notre exposé de même manière.

1° *Modifications du sang et de la circulation générale.*

Voici un tableau des modifications leucocytaires du sang, chez un cobaye ayant reçu *dans le péritoine* 15 centimètres cubes d'émulsion de *b. subtilis* dans l'eau physiologique.

Heures —	Leucocytose absolue du sang	Analyse des formes pour 100		
		Polyn.	Monon.	Lymph.
Avant l'injection	8000	74	8	18
1/2 heure après	7000	51	12	37
6 —	16000	80	8	12
30 —	15000	80	10	10
54 —	18000	82	4	6
7 jours —	8000	75	13	12

Nous retrouvons les mêmes stades d'hypoleucocytose du début, de leucocytose consécutive; ces fluctuations ne portent toujours que sur l'élément polynucléaire.

2° *Modifications locales (péritoine).*

a) Tout au début (1/3 heures), les microbes sont assez nombreux, libres dans l'exsudat où leucocytose et phagocytose sont à peu près nulles; mais ils sont encore plus nombreux dans l'épiploon replié, à l'état de liberté aussi. Le rapport du nombre des bacilles dans l'exsudat à celui dans l'épiploon est de deux à trente. Ils sont en général isolés, mais on en trouve en grumeaux, disposition naturelle dans l'émulsion. La diapédèse est très ac-

tive vers la deuxième heure, aux dépens des capillaires sanguins, par le leucocyte polynucléaire. Dans l'exsudat, la phagocytose n'est pas intense, elle est faite par le phagocyte sanguin.

Au niveau de l'épiploon, le même mécanisme d'emprisonnement dans les replis, facilité par la disposition grumeleuse de l'émulsion bacillaire; les amas microbiens sont pénétrés et englobés par les polynucléaires qui franchissent l'endothélium, nombreux.

On conçoit combien est éminemment favorable à l'immunité, ce rôle de l'épiploon : d'abord le drainage qui empêche la diffusion des bactéries, puis leur immobilisation à portée des phagocytes. Ceux-ci une fois bourrés réintègrent au fur et à mesure l'intérieur de l'organe, où dans une coupe de 12 heures, on peut les voir répartis dans les mailles conjonctives.

Dès la sixième heure on peut voir dans l'exsudat la présence des grandes cellules à noyau unique. Il est facile d'assister à leur englobement cellulaire : on trouve au sein de leur abondant protoplasma des leucocytes polynucléaires dans des vacuoles. mais on y rencontre quelquefois des petits amas bacillaires compacts, qui représentent un grumeau de l'émulsion. D'autre part dans la culture injectée les spores ne s'étaient pas toutes résolues en bacilles ; or, nous remarquons que les spores ou bacilles sporulés sont exclusivement contenus dans les grandes cellules lymphatiques.

Il y a, dans ce dernier acte, une raison chimiotactique probable, la résistance des éléments à spores n'ayant pas attiré le polynucléaire. Celui-ci n'englobe en effet que les

corps bacillaires (jusqu'à 15, 20 et plus par cellules). Ainsi bien réalisée la distinction émise par Metchnikoff du *microphage* (série vasculaire) et du *macrophage* (série lymphatique). Ces actes se répètent au niveau de l'épéploon, où l'on assiste assez fréquemment au drainage par les grandes cellules des polynucléaires chargés ou non de bacilles. Ceux-ci subissent dans ceux-là une digestion active, et les corps digérés se distinguent par une inaptitude à se colorer franchement; on voit leur transformation ultérieure en éosinophiles, plus tard encore sous forme de grains (Metchnikoff, Cantacuzène, Bordet, Mesnil). C'est la fin de la lutte.

b) Si efficace que soit le balayage effectué par l'épéploon dès les premiers instants après l'injection bacillaire, il ne l'est jamais complètement. Nous avons vu, pour le carmin, la suppléance organisée par ces petits organes lymphoïdes de la paroi. Leur mise en évidence est ici plus difficile pour plusieurs raisons : le peu d'affinité de la cellule lymphatique, qui seule y demeure, pour le microbe; ensuite la destruction assez rapide de celui-ci par le microphage polynucléaire, qui en triomphe assez aisément pour échapper au macrophage. En faisant des injections successives nous avons pu discerner de petits points vésiculeux de la paroi : c'étaient sur les coupes, nos amas déjà décrits pour la poudre inerte, mais où la phagocytose, on le conçoit, était si peu réelle qu'il fallait tenter une autre expérience (1).

1. Elle nous a été fournie par M. Gueorguevski. Nous le remercions ici de son obligeance.

Nous avons injecté un bacille pathogène pour le cobaye, mais à dose faiblement mortelle, pour qu'il y eût lutte plus sérieuse, une phagocytose suivie de la mort d'éléments cellulaires actifs. Nous nous sommes servi du bacille pyocyanique à une dose mortelle au bout de trois jours seulement.

Nous avons alors pu observer, d'une manière très manifeste, des amas lymphoïdes pariétaux. Nous ne reviendrons pas sur leur description : nous dirons seulement l'aspect nouveau. Tout d'abord, la délimitation en est très nette, même forme ovoïde. Dans l'intérieur de l'organe, une leucocytose importante faite de lymphocytes et de mononucléaires : y a-t-il création des éléments jeunes sur place ou appel aux centres lymphoïdes ? On ne saurait se prononcer ouvertement, car on ne rencontre pas de figures de division, de mitose, mais seulement des stades intermédiaires.

D'autre part des voies lymphatiques gorgées d'éléments mobiles convergent très nettement vers l'organe sous-endothélial. Notamment, on observe par endroits la continuité franche avec la nappe lymphatique pariétale. On rencontre quelques polynucléaires chargés de bacilles : ils ont dû s'y introduire par leurs mouvements amiboïdes à travers l'endothélium, sans doute parce qu'ils faiblissaient dans la lutte, car on en trouve d'autres englobés à leur tour par le macrophage. Il est aussi permis de penser, par analogie avec la réaction du carmin, que la grande cellule à noyau unique, en réserve dans l'organe, vient au bord de la cavité saisir au passage le microphage affaibli : on voit de semblables figures dans le trajet de l'organe, à

la cavité péritonéale. Enfin, favorisées par la stagnation, les cellules macrophages avec leur fardeau, peuvent y trouver un refuge ; c'est encore ce que nous avons vu pour le carmin.

c) Mais, revenons à l'objet premier de nos recherches : les cellules amiboïdes, mises en scène par l'injection du bacille subtilis dans la cavité péritonéale, prennent-ils d'autres voies, après la réaction locale ? Des expériences récentes de Podbeltsky, sous l'inspiration de Metchnikoff, à l'Institut Pasteur, permettaient de concevoir un résultat positif. L'auteur ayant injecté dans le péritoine des spores de bacille subtilis, obtenait des cultures positives, au bout de 4 jours, avec les viscères abdominaux, foie, rate, rein, le poumon même. Il semble donc qu'il y ait dû y avoir transport dans ces organes des spores injectées. Nous n'avons pas fait de cultures, après nos injections bacillaires, mais des frottis nombreux et quelques coupes des organes énoncés. Moins heureux nous n'avons pas trouvé la trace du bacille, dès les premiers instants jusqu'à 4 jours, du moins.

Dans l'expérience de Podbeltsky, on peut croire que quelques métastases se sont produites : quelques spores transportées par des macrophages, qui, nous l'avons vu, les englobent très bien, ayant vaincu celles-ci par leur résistance ont proliféré dans les organes ; peut-être même la culture ne s'est-elle faite qu'*in vitro*. Dans notre expérience, il est permis de supposer, que tout s'est passé localement, comme nous l'avons décrit. Que s'il y a eu des migrations cellulaires extra-locales, elles ont été trop tardives ou lentes pour que le saprophyte ingéré nous

servît d'indice : en effet, la résistance du corps bacillaire est, elle faible, et la digestion intra-cellulaire en est rapide. Ainsi une culture de l'exsudat péritonéal du troisième au quatrième jour ne donne déjà plus de résultat.

..

Nous parlerons ici, en quelques mots, des distinctions, très simples, offertes par les expériences précédentes sur des animaux préparés. Un animal préparé est celui qui a reçu dans le péritoine, une injection d'eau physiologique, la veille de l'introduction de la substance inerte ou parasitaire.

Il en résulte un afflux cellulaire plus considérable d'où une succession plus rapide et plus active dans les phénomènes de réaction. Ceux-ci subsistent intégralement, dans leur essence même.

APPENDICE

Intoxication chronique due à la présence de poudre inerte dans l'organisme.

Tous les animaux, que nous injectons avec la poudre de carmin, sont morts à échéance plus ou moins prolongée. Le dépérissement était progressif et se traduisait par une perte de poids constante, un amaigrissement extrême. Aux autopsies, la chair était rosée, pâle, l'atrophie musculaire très prononcée. Du côté des viscères, de la congestion *seulement du foie*, le rein gros non hypérhémie, la capsule surrénale notablement augmentée de volume ; l'estomac à peine occupé par très peu d'aliments, l'intestin grêle à peu près vide sur tout son trajet.

On conçoit qu'il y ait pu avoir une nutrition pauvre, à côté d'une désassimilation exagérée. Les exsudats ne cultivent pas en milieux ordinaires ; donc, à moins d'une espèce infiniment petite, comme celles dont la technique bactériologique vient de s'enrichir, il ne paraît pas y avoir une infection opératoire. D'ailleurs la maladie offre une marche chronique ; la mort de l'animal se fait dans le

délai de trois semaines à 1 ou 2 mois et plus.

Nous n'avons pas étudié d'assez près les causes et les phases de cette déchéance à terme éloigné; faisons valoir quelques arguments en faveur d'une intoxication, produite par la solubilité lente du carmin dans les cellules. Ainsi, nous avons inoculé dans le péritoine de cobayes des suspensions où le carmin se trouvait dissous en plus grande quantité (stérilisation du mélange à l'autoclave à 115°) : les animaux ainsi inoculés mouraient spontanément et plus vite que les autres, soit de 10 à 15 jours après l'injection. D'autre part il est évident que le carmin subit une lente dissolution par les sucs digestifs du protoplasme des phagocytes. Nous avons dessiné une figure géante où l'on voit le protoplasme du centre ombré d'une teinte estompée, celle adoucie du carmin dissous : à la forme granuleuse succède la forme en gouttelettes plus régulières, en même temps que la vacuole du début s'efface. Ce qui s'effectue ici longuement et insidieusement a été très nettement observé chez les annélides.

Il y a en outre hypoleucocytose du sang et de l'exsudat. Dans les frottis de rate et de moelle des os, on rencontre de gros éléments à noyau unique, vésiculeux, dont le protoplasme est entièrement couvert de granulations : celles-ci prennent le colorant basique mais non sa teinte. Là leur propre est invariablement noir-marron, on ne doit donc pas les confondre avec les cellules à granulations basiques (Matzellen d'Erlich) dont le noyau reste d'ailleurs incolore. La disposition des grains est d'un semis régulier, mais leurs contours ne sont pas nettement arrê-

tés, s'estompant sur les bords. On sait qu'il faut voir là des macrophages, bourrés de matériaux de désassimilation ; nombre d'observateurs les ont vu jouer un rôle important dans la destruction des globules rouges, notamment dans les anémies inséparables des cachexies.

A cela se bornent nos constatations sur ce sujet, mais nous les croyons suffisantes déjà pour établir notre opinion.

CONCLUSIONS

1° L'introduction de poudres inertes *dans les vaisseaux* nous montre que les leucocytes du sang (polynucléaires) ont pour ces substances une affinité peu prononcée, et ne les conservent que peu de temps, une fois qu'elles les ont englobées. En effet ce rôle d'arrêt est à peu près exclusivement dévolu aux macrophages mobiles de la rate, et aux macrophages fixes du foie (cellules de Kupffer). C'est à l'intérieur de ces éléments que se fait l'enkystement définitif des particules ingérées.

Cette double phagocytose splénique et hépatique aboutit tardivement à la formation de cellules géantes par confluence des éléments phagocytaires. En présence de ce rôle si actif des endothéliums hépatiques dans l'arrêt des corps étrangers à l'organisme, il est permis de se demander si la propriété antitoxique du foie n'est pas elle-même fonction de ces mêmes endothéliums.

2° Cette action prédominante des macrophages, nous la retrouvons lorsque l'injection se fait directement *dans les cavités séreuses*. Ici, également, si le processus débute par une intervention des leucocytes polynucléaires

(cette leucocytose étant surtout due à l'action chimiotactique de l'eau physiologique), cette intervention demeure peu efficace. En effet l'englobement définitif se fait par les grands leucocytes mononucléaires.

Au contraire, si au lieu de granulations inertes nous injectons des microbes saprophytes, nous constatons qu'ici l'élément actif de la lutte est le leucocyte polynucléaire, grand mangeur de parasites. Les macrophages, n'ont pour ainsi dire pas de rôle, dans la destruction des microorganismes ; ils n'entrent en scène que pour dévorer les microphages affaiblis par la lutte.

Cet englobement du carmin ne s'opère pas seulement à l'intérieur des macrophages mobiles, qui ont envahi la surface de l'épiploon. Une grande partie des granulations est englobée par des amas de leucocytes mononucléaires, groupés sous l'endothélium de la paroi abdominale, sous forme de petits organes lymphoïdes fixes.

Ces petits organes phagocytaires, que nous croyons avoir été le premier à observer, existent chez le cobaye et le lapin dans la cavité péritonéale, aussi bien que dans la cavité pleurale. Ils sont tout à fait comparables, comme fonction, aux amas phagocytaires de la cavité générale des annélides.

Dans ce processus péritonéal, le résultat tardif de l'englobement est également la formation de cellules géantes, à l'intérieur desquelles le carmin semble se dissoudre. Le mode de formation de ces cellules géantes est tout à fait comparable à celui du tubercule expérimental, tel qu'il a été établi par Metchnikoff, et par son élève Borrel.

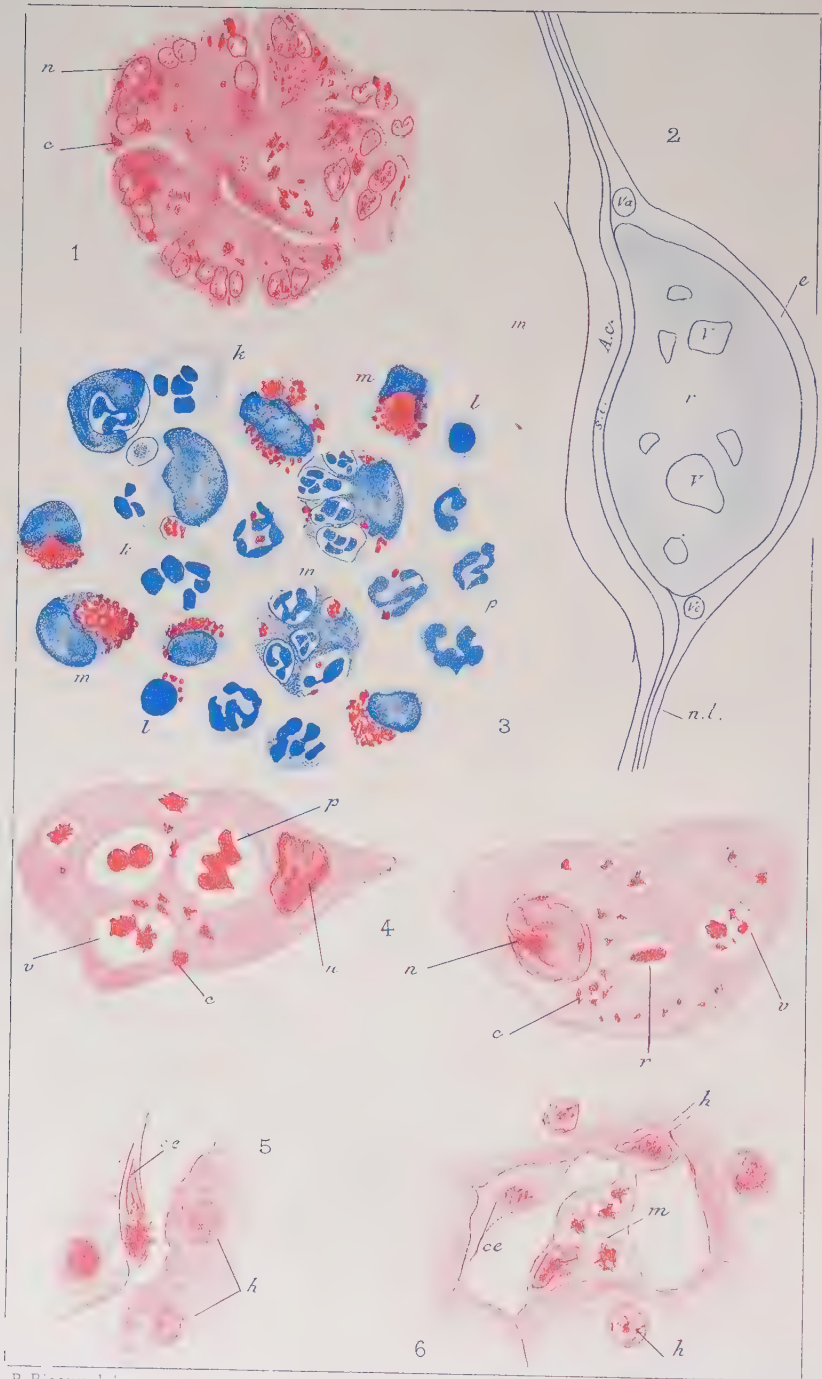
Notons en terminant que le processus d'englobement,

une fois achevé, la tendance n'est pas aux métastases, et à la diffusion dans l'organisme des substances phagocytées, mais bien plutôt à la localisation définitive dans les appareils lymphatiques, (organes lymphoïdes, séreuses) ; cela, aussi bien lorsqu'il s'agit d'injection par voie sanguine et d'injection intrapéritonéale. Dans ce dernier cas, le processus d'immobilisation semble rester limité aux parois péritonéales et à leurs dépendances immédiates.

Vu par le président de la thèse,
MATHIAS-DUVAL

Vu par le Doyen,
BROUARDEL

Vu et permis d'imprimer.
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
GRÉARD



R. Ricoux, del.

V. Roussel lith.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

FIGURE 1. — Formation géante de l'organe lymphoïde pariétal : il y a confluence de plusieurs macrophages à noyaux périphériques n ; fusion des protoplasmes au centre ; c, grains de carmin.

FIGURE 2. — Schéma de l'organe lymphoïde du péritoine pariétal, à fonction phagocytaire : m, couche musculaire ; Ac, tissu conjonctif ; sl, sinus lymphatique péri-folliculaire ; r, réticulum du tissu adénoïde ; V vaisseaux ; e, endothélium péritonéal.

FIGURE 3. — Un coin d'exsudat péritonéal du cobaye, 24 heures après l'injection de suspension carminée : p, polynucléaires et K leurs formes dégénérées ; m, macrophages avec leurs inclusions diverses ; l, lymphocytes.

FIGURE 4. — Macrophages de la pulpe splénique (24 heures après l'injection intra-veineuse) : v, vacuoles digestives contenant c, carmin et p, polynucléaire.

FIGURE 5. — Une cellule endothéliale phagocyte, du capillaire sanguin du foie : h, cellules hépatiques ; ce, cellules endothéliales.

FIGURE 6. — Un autre capillaire sanguin du foie avec ses trois cellules endothéliales, dont deux se fusionnent en formation géante, m.

BIBLIOGRAPHIE

- HÖCKEL (E.). — *Radiolarien* (1862, 104).
- COHNHEIM. — *Ueber Entzündung und Eiterung* (Arch. Path. Anat., 1867, XL, 1).
- SLAVJANSKY. — *Experimentelle Beiträge zur Pneumokoniosislehre* (Arch. Path. Anat., 1869, XLVIII).
- INNS (V.). — *Experimentelle Untersuchungen über kieseltaubinhaleation*. (Inaug. Dissert. Zurich., 1876).
- METCHNIKOFF. — *Untersuchungen über mesodermalen Phagocyten einiger Wirbelthiere* (Biol. Centralbl. III, 1883).
- METCHNIKOFF. — *Leçons sur la pathologie comparée de l'Inflammation* (Paris, 1892).
- MASSARD (J.) ET BORDET (Ch.). — *Le chimiotaxisme des leucocytes* (Ann. Inst. Pasteur, 1891, V, 417).
- TCHISTOWITCH. — *Phagocytose dans les poumons*. (Ann. Inst. Pasteur, 1889, III).
- KOVALESKI (A.). — *Etudes expérimentales sur les glandes lymphatiques des Invertébrés*. (Bull. Ac. St-Petersb. 1894, XIII, 347.)
- CUÉNOT. — *Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques des Invertébrés*. (Arch. Zool. Exp. Série II, 1891, IX, 13).
- RACOVITZA (E.). — *Sur le rôle des amibocytes chez les Annélides Polychètes* (C. R. Ac. Sciences, 1895).

CANTACUZÈNE (J.). — *Organes phagocytaires observés chez quelques Annélides marines* (C. R. Ac. Sciences 1897).

CANTACUZÈNE (J.). — *Nouvelles recherches sur le mode de destruction des vibrions dans l'organisme* (Ann. Inst. Pasteur, 1898, 273).

WERIGO. — *Les globules blancs protecteurs du sang* (Ann. Inst. Pasteur, 1892, VI).

WERIGO. — *Développement du charbon chez le Lapin* (Ann. Inst. Pasteur, 1894, VIII, 1).

QUERTON. — *Du rôle des cellules migratrices du sang et de la lymphe dans l'organisation des tissus chez les animaux à sang chaud* (Ac. Roy. Méd. Belgique, 1897).

PIERALLINI. (G.). — *Sur la phagolyse dans la cavité péritonéale* (Ann. Inst. Pasteur, 1897, XI, 308).

BORREL. — *Tuberculose pulmonaire expérimentale* (Ann. Inst. Pasteur, 1893, VII, 593).

